

PCTORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIETE INTELLECTUELLE
Bureau international

DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : A61K 9/16, 38/09	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 98/47489 (43) Date de publication internationale: 29 octobre 1998 (29.10.98)					
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR98/00773</p> <p>(22) Date de dépôt international: 17 avril 1998 (17.04.98)</p> <p>(30) Données relatives à la priorité:</p> <table border="0"> <tr> <td>97/04837</td> <td>18 avril 1997 (18.04.97)</td> <td>FR</td> </tr> <tr> <td>98/03666</td> <td>25 mars 1998 (25.03.98)</td> <td>FR</td> </tr> </table> <p>(71) Déposant (<i>pour tous les Etats désignés sauf US</i>): PHARMA BIOTECH [FR/FR]; Parc d'Activités du Plateau de Signes, Ch. Dep. No. 402, F-83870 Signes (FR).</p> <p>(72) Inventeurs; et</p> <p>(75) Inventeurs/Déposants (<i>US seulement</i>): PELLET, Marc [FR/FR]; Bois de Fayot, F-27160 Condé sur Iton (FR). ROUME, Chantal [FR/FR]; Quartier de l'Hubac, 493, chemin des Beaussières, F-83870 Signes (FR).</p> <p>(74) Mandataire: BOURGOUIN, André; Société de Conseils Administratifs et Financiers (S.C.A.F.) - Service Brevets et Marques, 42, rue du Docteur Blanche, F-75016 Paris (FR).</p>	97/04837	18 avril 1997 (18.04.97)	FR	98/03666	25 mars 1998 (25.03.98)	FR	<p>(81) Etats désignés: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, GW, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Publiée</p> <p><i>Avec rapport de recherche internationale.</i></p> <p><i>Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues.</i></p>
97/04837	18 avril 1997 (18.04.97)	FR					
98/03666	25 mars 1998 (25.03.98)	FR					
(54) Title: SUSTAINED-RELEASE COMPOSITIONS AND METHOD FOR PREPARING SAME							
(54) Titre: COMPOSITIONS PRESENTANT UNE LIBERATION PROLONGEE ET LEUR PROCEDE DE PREPARATION							
(57) Abstract							
<p>The invention concerns compositions in the form of microcapsules or implants comprising a biodegradable polymer or copolymer vehicle or mixture of vehicles with logarithmic viscosity number between 0.5 dl/g and 1.6 dl/g in CHCl₃ and an active substance or mixture of active substances, said microcapsules or implants being capable of releasing the active substance or mixture of active substances over a prolonged period up to three months or more. These compositions can also comprise an active substance with high specific surface area.</p>							
(57) Abrégé							
<p>L'invention concerne des compositions sous forme de microcapsules ou d'implants comprenant un excipient ou un mélange d'excipients polymères ou copolymères biodégradables de viscosité inhérente comprise entre 0,5 dl/g et 1,6 dl/g dans CHCl₃ et une substance active ou un mélange de substances actives, lesdits microcapsules ou implants pouvant libérer la substance active ou le mélange de substances actives sur une période prolongée pouvant aller jusqu'à trois mois ou plus. Ces compositions peuvent également comporter un principe actif présentant une surface spécifique élevée.</p>							

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Malï	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brazil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakhstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

**Compositions présentant une libération prolongée
et leur procédé de préparation**

L'invention concerne tout d'abord une composition sous forme de microcapsules ou d'implants comprenant un excipient ou un mélange d'excipients polymères ou copolymères biodégradables de viscosité inhérente comprise entre 0,5 dl/g et 1,6 dl/g dans CHCl₃ et au moins une substance active. L'invention concerne également une composition sous forme de microcapsules ou d'implants comprenant au moins un polymère ou un copolymère biodégradable de masse moléculaire élevée et au moins une substance active hydrosoluble présentant une surface spécifique élevée. De telles compositions seront utilisées pour obtenir une libération régulière de la substance active sur une période prolongée pouvant aller jusqu'à plus de trois mois.

Ces compositions et notamment les microcapsules trouvent leur utilisation principale en pharmacie, mais peuvent également être employées dans d'autres domaines, en particulier en agrochimie, c'est à dire dans le domaine phytosanitaire.

L'intérêt de l'administration de principes actifs sous forme de compositions à relargage progressif est connu depuis longtemps, qu'il s'agisse de produits pharmaceutiques classiques, par exemple de stéroïdes, de peptides ou de protéines (voir par exemple le brevet US 3,773,919 de Boswell), ou de produits à usage phytosanitaire. Les formulations adoptées peuvent prendre la forme de microparticules dans lesquelles le principe actif est incorporé dans un polymère ou un copolymère biodégradable tel le copolymère polylactide-co-glycolide (PLGA).

Il est apparu que notamment lorsqu'un mode de relargage relativement constant, en tout cas sans interruption, est recherché, mode qualifié par exemple de "monophasique" dans le brevet européen EP 58 481, des polymères de type PLGA de relativement bas poids moléculaire, donc de faible viscosité, sont nécessaires. On peut citer à ce sujet les brevets européens EP 21 234 (voir l'exemple 8.B.2. décrivant un copolymère de viscosité intrinsèque de 0,5 dl/g), EP 52 510 où un copolymère ayant une viscosité de 0,38 dl/g dans l'hexafluoropropanol (HFIP) est testé *in vivo*, EP 26 599 qui décrit en exemple des polymères ayant des viscosités de 0,12 à 0,20 dl/g et revendique des polymères ayant une viscosité de 0,08 à 0,30 dl/g. Les polymères décrits dans ces brevets sont présentés comme conduisant à des compositions à relargage constant. Les compositions du brevet EP 26 599 peuvent par exemple contenir des agents de contrôle de fertilité.

Il est d'ailleurs important de noter à cet égard que lors de la procédure d'opposition relative

au brevet européen EP 58 481, procédure encore en cours au jour du dépôt de la présente demande, le déposant a limité sa revendication principale à des polymères de faible viscosité (inférieure à 0,3 ou 0,5 dl/g), seuls capables selon le déposant de permettre un relargage de type monophasique.

- 5 Par ailleurs, lorsqu'une période de relargage plus longue est recherchée, par exemple supérieure à un mois, des problèmes plus complexes apparaissent et une solution proposée par exemple par le brevet EP 0 302 582 consiste à mélanger plusieurs types de microcapsules constituées par des polymères de viscosités différentes.

10 Or la demanderesse vient de constater que certains polymères de viscosité élevée peuvent convenir à la préparation de compositions à relargage progressif de longue durée. Il a été aussi constaté que l'utilisation de certains polymères conduit à des compositions ayant un profil de relargage monophasique pendant une durée très longue et sans période initiale ne comportant pas de libération ("dead period"). Il en est particulièrement ainsi de polymères ayant une viscosité inhérente de préférence au moins égale à 0,5 dl/g dans CHCl_3 , et de 15 façon plus préférentielle au moins égale à 0,6 ou 0,7 dl/g. Toutefois, la viscosité inhérente de ces polymères n'excédera en principe pas 1,6 dl/g dans CHCl_3 , et pourra être inférieure à 1,4 ou 1,2 dl/g. Lesdits polymères seront de préférence des PLGA avec un ratio lactide / glycolide allant de 40 / 60 à 90 / 10, et de préférence d'environ 75 / 25.

20 Les polymères selon l'invention peuvent être préparés par les méthodes usuelles, notamment par ouverture des cycles lactide ou glycolide. Un tel procédé est décrit par exemple dans le brevet américain US 3,773,919.

Dans la présente invention, on peut également utiliser un mélange de polymères de viscosités élevées différentes, mais on préfère les compositions ne comportant qu'un seul polymère ou copolymère.

25 L'invention concerne donc tout d'abord une composition sous forme de microcapsules ou d'implants comprenant un excipient ou un mélange d'excipients polymères ou copolymères biodégradables de viscosité inhérente comprise entre 0,5 dl/g et 1,6 dl/g dans CHCl_3 et une substance active ou un mélange de substances actives, ces microcapsules ou implants 30 pouvant libérer la substance active ou le mélange de substances actives sur une période prolongée d'au moins 1 mois, de préférence, d'au moins 2 mois et, de façon plus préférentielle, d'au moins 3 mois.

Par microcapsule, on entend également inclure les microsphères, microparticules, nanocapsules, nanosphères ou nanoparticules. Par polymère, on comprendra un polymère, un copolymère, ou un mélange quelconque de ces entités. Enfin, par substance active, on entend une substance active, un de ses sels ou un de ses précurseurs, ou un mélange
5 quelconque de ces composés.

Des sels de substances actives utilisables pour des compositions selon l'invention comprennent notamment les sels obtenus à partir d'acides organiques comme les acides acétique, malique, tartrique, oxalique, fumarique, citrique, lactique, stéarique, pamoïque, méthanesulfonique ou p-toluènesulfonique, ou à partir d'acides inorganiques comme les
10 acides chlorhydrique, sulfurique, phosphorique ou bromhydrique. De préférence, on utilisera un produit hydrosoluble, obtenu par salification sous forme de cation, avec par exemple l'acide acétique. On peut cependant utiliser un sel insoluble, par exemple un pamoate.

En particulier, l'invention concerne une composition sous forme de microcapsules ou
15 d'implants comprenant un excipient ou un mélange d'excipients polymères ou copolymères biodégradables et une substance active ou un mélange de substances actives, lesdites microcapsules ou lesdits implants pouvant libérer la substance active ou le mélange de substances actives sur une période prolongée pouvant aller jusqu'à trois mois ou plus selon un profil essentiellement monophasique, ladite composition étant caractérisée en ce que :

- 20 - ou bien, lorsque la composition est sous forme de microcapsules :
- soit la viscosité desdits polymères ou copolymères est comprise entre 0,7 dl/g et 1,6 dl/g dans CHCl_3 et le procédé de préparation desdites microcapsules ne comporte pas d'étape de fusion desdites microcapsules,
 - soit la viscosité desdits polymères ou copolymères est comprise entre 0,5 dl/g et
25 1,6 dl/g dans CHCl_3 et lesdits polymères ou copolymères ont un caractère hydrophile,
- ou bien, lorsque la composition est sous forme d'implants, la viscosité desdits polymères ou copolymères est comprise entre 0,5 dl/g et 1,6 dl/g dans CHCl_3 .

De préférence, la viscosité des polymères ou copolymères pour les compositions de
30 l'invention sera au moins égale à 0,9 dl/g dans CHCl_3 .

Les polymères ou copolymères utilisables pour l'invention peuvent être notamment des polymères tels ceux de l'acide lactique, l'acide glycolique, l'acide citrique ou l'acide malique, ou bien d'autres polymères biocompatibles comme l'acide poly- β -hydroxybutyrique, les polyorthoesters, les polyorthocarbonates, les polyesters d'acide α -cyanoacrylique, les
35 polyoxalates d'alkylène tels le polyoxalate de triméthylène ou de tétraméthylène, les

polyaminoacides, etc. Ils peuvent être aussi des copolymères comme le PLGA, le polystyrène, l'acide polyméthacrylique, des copolymères d'acide méthacrylique et d'acide acrylique, des polyaminoacides, des polymères d'anhydride maléique, l'éthylcellulose, le nitrocellulose, l'acétylcellulose, etc. Tous ces polymères ou copolymères peuvent être utilisés seuls ou en un mélange quelconque. Les PLGA comprendront en général de 40 à 90 % de lactide et de 10 à 60 % de glycolide. De préférence, on utilisera le D,L-PLGA et, plus préférentiellement, un D,L-PLGA réalisé à partir de 70 à 80 % de DL-lactide et de 20 à 30 % de glycolide. Un PLGA synthétisé à partir de 75 % de DL-lactide et 25 % de glycolide conviendra particulièrement bien pour l'invention.

10 Un autre polymère particulièrement préféré pour l'invention est le L-PLGA, obtenu à partir de L-lactide et de glycolide. Par rapport au D,L-PLGA de même viscosité, le L-PLGA assure une libération plus lente et représente une alternative aux D,L-PLGA de plus haute viscosité.

D'une façon générale, on préférera les polymères ou copolymères de caractère hydrophile. Ainsi, on préférera en général, aux PLGA obtenus par ouverture de cycle avec des initiateurs hydrophobes, tels ceux de type alcool laurique, ceux obtenus par ouverture de cycle, avec des initiateurs hydrophiles, tels ceux de type acide lactique ou acide glycolique.

Par polymère ou copolymère de caractère hydrophile, on entend un polymère ou un copolymère dont la chaîne terminale est polaire (par exemple, cette chaîne terminale comporte à son extrémité une fonction acide), par opposition à un polymère ou copolymère de caractère hydrophobe pour lequel la chaîne terminale est apolaire (par exemple, cette chaîne terminale est une chaîne aliphatique).

L'indice d'acide, correspondant au nombre de milliéquivalents de KOH nécessaires par gramme de polymère pour neutraliser l'acidité libre, semble être le paramètre le mieux corrélé au caractère hydrophile ou hydrophobe d'un polymère ou copolymère. L'indice d'acide pourra être mesuré dès que du fait de la nature du monomère, les chaînes terminales des polymères ou copolymères pourront comporter une fonction acide libre.

D'une façon générale, la demanderesse a trouvé que les polymères hydrophiles donnent un meilleur profil de libération. Ainsi, l'indice d'acide pour les polymères de l'invention sera de préférence au moins égal à 1, ou, mieux, 1,2, et plus préférentiellement au moins égal à 1,5 ou 2.

La charge en substance active ("core loading") des microcapsules selon l'invention, c'est à dire le rapport entre la masse du peptide pur encapsulé et la masse totale de la microcapsule, sera en général comprise entre 0 et 20 %, de préférence entre 2 et 15 %. Pour

l'acétate de triptoréline, la charge sera de préférence inférieure ou égale à 10 % et, de façon plus préférentielle, comprise entre 4 et 8 % pour des formes permettant une libération sur une période d'environ 3 mois. Pour l'acétate de lanréotide, la charge sera de préférence comprise entre 10 et 20 %.

- 5 Pour des implants, la charge en substance active sera en général comprise entre 0 et 30 % et, de préférence, entre 15 et 25 %.

L'étape d'encapsulation peut être une étape dite de coacervation telle que décrite par exemple dans les brevets américain US 3,773,919 ou européen EP 52 510.

- 10 On peut également utiliser un procédé dit de fusion-extrusion tel que décrit dans le brevet européen EP 58 481 ou dans le brevet américain US 5,225,205, les produits obtenus étant ensuite éventuellement broyés selon les méthodes usuelles, pour aboutir à des microparticules.

- 15 Par ailleurs, on peut utiliser un principe actif hydrosoluble tel qu'un sel hydrosoluble d'un peptide, par exemple l'acétate. On peut également utiliser un sel insoluble d'une molécule soluble tel qu'un sel d'acide gras d'un peptide, par exemple, un pamoate de peptide tel que décrit dans le brevet britannique GB 2 209 937.

Les compositions obtenues par fusion-extrusion en utilisant les polymères selon l'invention peuvent également se présenter sous forme d'implants et être utilisées en tant que telles.

- 20 Ces implants sont de préférence des petits implants (mini-implants ou microimplants) d'un diamètre de l'ordre de 1 mm, par exemple entre 0,8 et 1,2 mm. La longueur de ces implants peut être comprise par exemple entre 10 et 35 mm, par exemple de l'ordre de 25 mm. Ces implants donnent des résultats très intéressants avec de faibles doses de principe actif, par exemple de l'ordre de 3 mg d'acétate de triptoréline par implant. De tels implants peuvent libérer le principe actif pendant une durée pouvant atteindre 3 mois ou plus.

- 25 En outre, il est apparu que la configuration du principe actif pouvait également avoir une influence sur la diffusion de ce produit. En particulier, lorsqu'un principe actif peut être obtenu sous une forme cristallisée ou amorphe, le choix de l'une ou l'autre forme n'est pas indifférent.

- 30 La demande de brevet EP 709 085 décrit des microcapsules comprenant un polymère et une substance active hydrosoluble et amorphe. Il y est en particulier question de l'importance d'obtenir des particules de substance active de petite taille, et de préférence de taille inférieure à 10 µm. Cette demande ne comporte cependant aucun procédé de préparation desdites particules et aucune mention n'est faite de l'effet de la surface spécifique des particules de

principe actif sur le profil de relargage des compositions contenant ces particules. Or la demanderesse utilise déjà depuis 1986 des microcapsules comportant une substance active amorphe, l'acétate de triptoréline vendu sous la dénomination Decapeptyl 3,75 mg, dont la taille des particules est d'environ 8 μm seulement. Mais elle a constaté que la taille des particules n'est pas le seul paramètre déterminant pour favoriser une libération sur une période prolongée pouvant aller jusqu'à plus de trois mois.

La question du caractère amorphe ne se pose en principe pas pour des produits tels que les peptides ou les protéines dont le mode d'obtention, spécialement la lyophilisation, conduit dans la plupart des cas à un produit amorphe, ce qui est le cas pour le Decapeptyl 3,75 mg.

10 La littérature illustre abondamment ce phénomène et l'on peut citer notamment les articles suivants : Hsu, C.C. et al., *Pharmaceutical Research*, 12 (1), 69-77 (1995) ou Towns, J.K., *Journal of Chromatography, A*, 705 (1), 115-27 (1995).

L'invention concerne donc également une composition sous forme de microcapsules ou d'implants comprenant au moins un polymère ou un copolymère biodégradable, de préférence de masse moléculaire élevée, et au moins une substance active hydrosoluble présentant une surface spécifique élevée. En particulier, ladite surface spécifique est supérieure à 2 m^2/g , et de préférence supérieure à 3 m^2/g . Plus préférentiellement, ladite surface spécifique est supérieure à 5 m^2/g ou 10 m^2/g . Encore plus préférentiellement, ladite surface spécifique est supérieure à 20 m^2/g , et de préférence supérieure à 30 m^2/g .

20 L'invention concerne de préférence les compositions ci-dessus dans lesquelles la substance active hydrosoluble est un peptide ou une protéine.

Elle concerne de même les compositions ci-dessus pour lesquelles la viscosité du polymère ou du copolymère est comprise entre 0,5 et 1,6 dl/g dans CHCl_3 , et de préférence comprise entre 0,9 et 1,6 dl/g dans CHCl_3 . En particulier, on pourra choisir d'utiliser des polymères ou copolymères de viscosité comprise entre 0,7 et 1,3 dl/g dans CHCl_3 , et encore plus préférentiellement des polymères ou copolymères de viscosité comprise entre 0,9 et 1,3 dl/g. Des polymères particulièrement adaptés seront des PLGA. De préférence, lesdits PLGA seront préparés à partir de 40 à 90 % de lactide et de 10 à 60 % de glycolide, et plus préférentiellement à partir de 70 à 80 % de lactide et de 20 à 30 % de glycolide. De préférence, les substances actives hydrosolubles incorporées dans les microcapsules ou implants seront des protéines ou des peptides.

Les compositions comprenant une substance active de surface spécifique élevée seront de préférence telles que la viscosité du polymère ou du copolymère soit comprise entre 0,5 et 1,6 dl/g dans CHCl_3 et que le polymère ou le copolymère présente un caractère hydrophile,

l'indice d'acide de ce dernier étant supérieur à 1 meq de KOH par gramme de polymère ou copolymère, et de préférence supérieur à 1,2, plus préférentiellement 1,5 meq voire 2 meq de KOH par gramme de polymère ou copolymère.

5 L'invention concerne de plus des compositions sous forme de microcapsules ou d'implants comprenant une substance active de surface spécifique élevée caractérisées en ce que le polymère ou copolymère est un PLGA, de préférence un PLGA préparé à partir de 70 à 80 % de lactide et de 20 à 30 % de glycolide, la viscosité dudit PLGA étant comprise entre 0,5 et 1,6 dl/g dans CHCl_3 et la substance active incorporée dans les microcapsules ou implants étant une protéine ou un peptide.

10 Ces microcapsules ou implants permettent un profil de relargage monophasique dans lequel le pic initial (ou "burst" en anglais) est réduit par rapport à certaines autres préparations utilisant un polymère de poids moléculaire plus faible, de sorte qu'elles permettent de libérer la substance active sur une période prolongée pouvant aller jusqu'à plus de trois mois.

15 En d'autres termes, la demanderesse a découvert que les propriétés de relargage, notamment le relargage de type monophasique, de compositions sous forme de microcapsules ou d'implants, en particulier de compositions à base de PLGA, et comportant comme principe actif un peptide ou une protéine sont considérablement améliorés si au moins une des caractéristiques suivantes est présente :

20 a) le polymère ou copolymère est un PLGA qui présente une viscosité dans le chloroforme supérieure à 0,5 dl/g, de préférence supérieure à 0,9 dl/g et inférieure en principe à 1,6 dl/g ;

b) le polymère ou copolymère est un PLGA préparé à partir de 70 à 80 % de lactide et de 20 à 30 % de glycolide ;

25 c) le polymère ou le copolymère présente un caractère hydrophile, et a de préférence un indice d'acide supérieur à 1 meq KOH, et plus préférentiellement supérieur à 1,2 voire 1,5 meq KOH par gramme de polymère ou de copolymère ;

d) le principe actif, de préférence un peptide ou une protéine, a une surface spécifique élevée et supérieure à $2 \text{ m}^2/\text{g}$, de préférence supérieure à $10 \text{ m}^2/\text{g}$, plus préférentiellement supérieure à $20 \text{ m}^2/\text{g}$ et même supérieure à $30 \text{ m}^2/\text{g}$;

30 ces caractéristiques pouvant éventuellement être combinées à l'utilisation d'un L-PLGA au lieu d'un D,L-PLGA.

Dans l'état actuel de ses connaissances, la demanderesse estime que la caractéristique d) est

très importante à elle seule et peut être combinée avantageusement aux autres caractéristiques a), b) ou c). En particulier, on pourra combiner la caractéristique d) aux caractéristiques suivantes : a) seule, b) seule, c) seule, a) et b) ensemble, a) et c) ensemble, b) et c) ensemble, ou a), b) et c) ensemble. On combinera plus préférentiellement la caractéristique d) avec au moins la caractéristique c).

Parmi les substances actives utilisables pour les différents aspects de l'invention, on peut notamment citer les protéines et les peptides. Lesdites substances actives pourront être choisies par exemple dans le groupe constitué des substances suivantes : la triptoréline ou un de ses sels, en particulier l'acétate de triptoréline, le lanréotide ou un de ses sels, en particulier l'acétate de lanréotide, l'octréotide ou un de ses sels (tel que décrit par exemple dans le brevet européen EP 29 579), en particulier l'acétate ou le pamoate d'octréotide, un composé ayant une activité LH-RH tel que la triptoréline, la goséréline, la leuproréline, la buséréline ou leurs sels, un antagoniste de LH-RH, un antagoniste de GPIIb/IIIa, un composé ayant une activité similaire à un antagoniste de GPIIb/IIIa, l'érythropoïétine (EPO) ou un de ses analogues, les différents interférons α , l'interféron β ou γ , la somatostatine, un dérivé de la somatostatine tel que décrit dans le brevet européen EP 215 171, un analogue de la somatostatine tel que décrit dans le brevet américain US 5,552,520 (ce brevet comporte lui-même une liste d'autres brevets décrivant des analogues de la somatostatine qui sont incorporés par référence à la présente demande), l'insuline, une hormone de croissance, un facteur libérateur d'hormone de croissance (GRF), un peptide libérateur d'hormone de croissance (GHRP), un facteur de croissance épidermique (EGF), une hormone mélanocyte-stimulante (MSH), une hormone libératrice de thyrotropine (TRH) ou un de ses sels ou dérivés, une hormone stimulant la thyroïde (TSH), une hormone lutéinisante (LH), une hormone stimulant les follicules (FSH), une hormone parathyroïdienne (PTH) ou un de ses dérivés, un hydrochlorure de lysozyme, un peptide relié à l'hormone parathyroïdienne (PTHrp), un fragment de peptide à N terminal (position 1—>34) de l'hormone PTH humaine, la vasopressine ou un de ses dérivés, l'oxytocine, la calcitonine, un dérivé de la calcitonine ayant une activité similaire à celle de la calcitonine, un peptide relié au gène de la calcitonine (CGRP), le glucagon, un peptide similaire au glucagon (GLP), la gastrine, un peptide libérateur de gastrine (GRP), la sécrétine, la pancréozymine, la cholécystokinine, l'angiotensine, le lactogène du placenta humain, la gonadotropine chorionique humaine (HCG), l'enképhaline, un dérivé de l'enképhaline, le facteur stimulateur de colonies (CSF), l'endorphine, la kyotorphine, les interleukines, par exemple l'Interleukine 2, la tuftsine, la thymopoiétine, la thymosthymline, le facteur thymique humoral (THF), le facteur thymique sérique (FTS), un dérivé du facteur thymique sérique (FTS), la thymosine, le facteur thymique X, le facteur de nécrose tumorale (TNF), la motiline, la bombésine ou un de ses dérivés tels que décrits dans le brevet américain US 5,552,520 (ce brevet comporte lui-

même une liste d'autres brevets décrivant des dérivés de la bombésine qui sont incorporés par référence à la présente demande), la prolactine, la neurotensine, la dynorphine, la caeruleine, la substance P, l'urokinase, l'asparaginase, la bradykinine, la kallikréine, la facteur de croissance nerveuse, un facteur de coagulation sanguine, la polymixine B, la colistine, la gramicidine, la bacitracine, un peptide stimulant la synthèse protéique, un antagoniste de l'endothéline ou un de ses sels ou dérivés, un polypeptide intestinal vasoactif (VIP), l'hormone adrénocorticotropique (ACTH) ou un de ses fragments, un facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF), une protéine morphogénétique osseuse (BMP), un polypeptide activant l'adénylatecyclase pituitaire (PACAP), le neuropeptide Y (NPY), le peptide YY (PYY), un polypeptide inhibiteur gastrique (GIP), et des polynucléotides, notamment des ARN double brin (ARNdb) tels ceux décrits dans la demande de brevet EP 0 300 680 ou le brevet français No. 2 622 586.

Par ARNdb, on entend de préférence l'acide polyadénylique complexé avec l'acide polyuridylique, aussi appelé poly(A)-poly(U) ou Poly-adenur®. D'autres ARNdb peuvent être utilisés pour l'invention, notamment un complexe de l'acide polyinosinique avec l'acide polycytidylique, également connu sous le nom de poly(I)-poly(C), ainsi que ces mêmes complexes modifiés par introduction d'acide uridylique dans la chaîne de l'acide polycytidylique, tel le produit Ampligen® de la société HEMISPHERx (pour une description de ces produits, se référer notamment à la demande de brevet européen EP 0 300 680). L'ARNdb utilisé peut être par exemple un mélange d'ARNdb tels que défini ci-dessus. De préférence, les ARNdb sont préparés selon le procédé décrit dans le brevet français No. 2 622 586.

Une surface spécifique élevée peut être obtenue pour les substances actives précitées dès lors qu'elles sont hydrosolubles ou rendues hydrosolubles, par exemple par salification ou par greffe sur leur structure d'une chaîne hydrosoluble. Ceci est en particulier valable pour les peptides et les protéines précitées. Toute autre substance active hydrosoluble, ou un de ses sels ou précurseurs, et en particulier les sels obtenus par salification avec l'acide acétique, pourra également être utilisée par l'homme du métier pour cet aspect de l'invention s'il le juge utile.

Selon un des aspects préférés de l'invention, le peptide ou la protéine de surface spécifique élevée sont choisis dans un groupe composé de l'acétate de triptoréline, l'acétate de lanréotide ou l'acétate d'octréotide.

Par peptide et/ou protéine, on entend dans la présente demande aussi bien le peptide et/ou la protéine eux-mêmes que des fragments, sels ou dérivés pharmacologiquement actifs de ces peptides ou protéines.

La substance active hydrosoluble telle qu'utilisée pour fabriquer des microcapsules ou des implants selon l'invention, et en particulier l'acétate de triptoréline, l'acétate de lanréotide, l'acétate d'octréotide, la goséréline, la leuproréline, la buséréline ou leurs sels, est obtenue de préférence par un procédé comportant principalement deux étapes :

- 5 - une étape de lyophilisation comprenant une trempe rapide d'une solution diluée de la substance hydrosoluble dans un milieu de température inférieure à -50°C , et de préférence inférieure à -70°C ;
 - éventuellement une étape de broyage ; de préférence, cette étape comprendra un broyage ultrasonique.
- 10 Par solution diluée de la substance active, on entend une solution ayant une concentration de ladite substance active inférieure à la moitié de la concentration de saturation, et de préférence inférieure à un quart de ladite concentration de saturation lorsque celle-ci est au moins égale à 200 g/l. Ce procédé permet d'obtenir une substance active présentant une surface spécifique élevée.
- 15 Par trempe rapide, il faut entendre une mise en contact avec un milieu à basse température provoquant une congélation instantanée de la solution de substance hydrosoluble.

Pour la lyophilisation, on pourra par exemple congeler la solution dans un plateau baignant dans un bac d'azote liquide, avant de procéder à la lyophilisation proprement dite.

- 20 De préférence, afin d'obtenir une surface spécifique maximale, la trempe rapide de la solution sera précédée d'une micronisation de la solution de substance active. Lorsque la solution de substance active est préalablement micronisée, la température du milieu à basse température pourra être inférieure à -50°C seulement.

- 25 Par exemple, pour obtenir une surface spécifique très élevée, on pourra choisir d'atomiser la solution en la pulvérisant à travers un atomiseur sur une plaque métallique à très basse température. La température de la plaque sera de préférence inférieure à -50°C , et plus préférentiellement inférieure à -70°C voire -80°C ou -120°C . Cette température pourra être atteinte par exemple en faisant tremper une plaque métallique dans un milieu à très basse température comme par exemple de l'azote liquide. Selon une variante préférée de l'invention, la plaque métallique est creuse et la solution est pulvérisée à l'aide d'un
- 30 atomiseur à l'intérieur de ladite plaque.

D'autres techniques de congélation sont envisageables, par exemple l'atomisation de la solution de substance active dans un bain de non-solvant de ladite substance active préalablement réfrigéré. Comme non-solvant, on préférera un gaz liquéfié comme par

exemple l'azote liquide.

Une autre possibilité est de congeler la solution de substance active sur un plateau tournant réfrigéré ("drum-freezing"). Comme indiqué précédemment, cette congélation sera de préférence précédée d'une micronisation de la solution de substance active.

- 5 Lorsque le procédé de congélation dans un plateau est appliqué à une substance active pour préparer des microcapsules ou des implants à libération prolongée selon l'invention, la surface spécifique de la substance active, après lyophilisation mais avant broyage, sera de préférence supérieure à $2 \text{ m}^2/\text{g}$. De façon plus préférentielle, la surface spécifique de la substance active sera supérieure à $3 \text{ m}^2/\text{g}$, voire $5 \text{ m}^2/\text{g}$.
- 10 Si une surface spécifique supérieure à $10 \text{ m}^2/\text{g}$ est nécessaire, il sera préférable de recourir au procédé incluant une étape de micronisation. De préférence, la surface spécifique obtenue pour la substance active après lyophilisation sera supérieure à $15 \text{ m}^2/\text{g}$. Encore plus préférentiellement, cette surface spécifique sera supérieure à $20 \text{ m}^2/\text{g}$, voire $30 \text{ m}^2/\text{g}$.

- 15 Pour faire varier les surfaces spécifiques obtenues, on pourra faire varier les conditions de congélation de la solution de substance active en jouant sur différents paramètres tels que par exemple la vitesse de congélation ou la concentration de la solution.

- 20 La surface spécifique de la substance active est un facteur favorable pour obtenir une libération sur une période prolongée, en particulier dans le cas des microcapsules. En effet, comme déjà évoqué, des particules d'une substance active de même taille mais de surfaces spécifiques différentes donneront avec le même excipient polymère des résultats tout à fait différents.

- 25 L'invention a donc également pour objet les procédés tel que décrits ci-dessus appliqués à une substance hydrosoluble biologiquement active. Elle concerne aussi la substance hydrosoluble biologiquement active telle qu'obtenue par ces procédés, laquelle présente une surface spécifique élevée.

En particulier, l'invention concerne de l'acétate de triptoréline, de l'acétate de lanréotide ou de l'acétate d'octréotide tel qu'obtenu par les procédés décrits précédemment, ou un ARN double brin, de préférence un complexe d'acide polyadénylique avec de l'acide polyuridylique, tel qu'obtenu par ces procédés.

- 30 Comme indiqué ci-dessus, les compositions selon l'invention trouvent leur usage de préférence dans le domaine pharmaceutique. Les compositions pharmaceutiques peuvent être administrées à un patient par différentes voies ; cependant, la voie préférée est la voie injectable sous-cutanée ou intramusculaire. Les microcapsules selon l'invention peuvent

d'abord être suspendues dans un véhicule approprié destiné à l'injection, comme une solution aqueuse de chlorure de sodium ou une solution aqueuse de mannitol.

5 A moins qu'ils ne soient définis d'une autre manière, tous les termes techniques et scientifiques utilisés ici ont la même signification que celle couramment comprise par un spécialiste ordinaire du domaine auquel appartient cette invention. De même, toutes les publications, demandes de brevets, tous les brevets et toutes autres références mentionnées ici sont incorporées par référence.

Les exemples suivants sont présentés pour illustrer les procédures ci-dessus et ne doivent en aucun cas être considérés comme une limite à la portée de l'invention.

10 **EXEMPLES :**

Pour tous ces exemples, les viscosités inhérentes (IV) ont été mesurées selon les méthodes classiques de mesure du temps d'écoulement telles que décrites par exemple dans "Pharmacopée Européenne", 1997, pages 17-18 (méthode au tube capillaire). Sauf mention contraire, ces viscosités ont été mesurées dans le chloroforme à une concentration de 0,1 % à 25 °C, ou dans l'hexafluoroisopropanol à une concentration de 0,5 % à 30 °C. La surface spécifique de la substance active, lorsqu'elle a été mesurée, a été déterminée par la méthode dite méthode B.E.T. (absorption d'une monocouche d'azote sur la substance active), méthode bien connue de l'homme du métier.

20 Pour les exemples suivants, on appellera peptide "modifié" un peptide ayant subi le procédé de lyophilisation selon l'invention, par opposition au peptide "non modifié", qui est lyophilisé de façon classique (sans trempage brutale à basse température).

Exemple 1 :

16,620 g d'acétate de triptoréline "non modifié" sont dissous dans 554 ml d'eau. La solution est congelée dans un plateau baignant dans un bac d'azote liquide, puis lyophilisée.

25 15,18 g d'acétate de triptoréline "modifié" sont ainsi obtenus avec un rendement de 91,34 %. Ce composé présente une surface spécifique de 4,7 m²/g contre 0,8 m²/g avant lyophilisation.

30 On réalise ensuite le broyage aux ultrasons de l'acétate de triptoréline : 15 minutes sont suffisantes pour obtenir des particules inférieures à 10 µm pour le peptide modifié (alors que 30 minutes sont nécessaires pour obtenir une telle granulométrie avec le peptide non modifié).

L'étape d'encapsulation est ensuite réalisée selon la méthode de coacervation telle que décrite dans les brevets européen EP 52 510 et américain US 3,773,919; au départ de 3,378 g de cet acétate de triptoréline modifié et broyé et d'une solution à 7,30 % de D,L-PLGA (D,L-PLGA composé de 75 % de DL-lactide et 25 % de glycolide, viscosité inhérente dans le chloroforme = 0,70 dl/g, indice d'acide = 1,61 meq KOH / g) dans du dichlorométhane. 390 ml d'huile de silicone ont été additionnés pour former des microcapsules par le procédé de coacervation. Ces microcapsules sont récupérées après immersion dans un bain d'heptane (22 l) et filtration sur membrane 10 µm.

Exemple 2 :

0,338 g d'acétate de triptoréline non modifié, de granulométrie égale à 8 µm après broyage aux ultrasons pendant 30 minutes, ont été additionnés sous agitation à une solution à 7,30 % de D,L-PLGA dans du dichlorométhane (PLGA équivalent à celui décrit dans l'exemple 1). 40 ml d'huile de silicone ont été additionnés pour former des microcapsules qui sont par la suite précipitées dans un bain d'heptane (2 l) puis filtrées sur membrane 10 µm.

Exemples 3 à 6 :

0,338 g d'acétate de triptoréline modifié selon les conditions décrites dans le Tableau No. 1 ci-dessous, ont été additionnés, après broyage aux ultrasons, à une solution à 7,30 % d'un mélange 33,3 % / 33,3 % / 33,3 % de trois D,L-PLGA (aux caractéristiques décrites dans le Tableau No. 2 ci-dessous) dans du dichlorométhane. 40 ml d'huile de silicone ont été additionnés pour former des microcapsules qui sont par la suite précipitées dans un bain d'heptane (2 l) puis filtrées sur membrane 10 µm.

Tableau No. 1

Exemple	Concentration g/l	Quantité acétate de triptoréline (g)	Quantité d'eau (ml)	Surface spécifique m ² /g
3	200	3	15	4,4
4	150	3	20	4,7
5	100	3	30	4,8
6	50	3	60	7,3

La surface spécifique de l'acétate de triptoréline de départ (non modifié) est de 0,8 m²/g.

Les caractéristiques physico-chimiques des trois polymères mélangés sont réunies dans le Tableau No. 2 ci-après :

Tableau No. 2

Caractéristiques	PLGA No. 1	PLGA No. 2	PLGA No. 3
Ratio lactide / glycolide	D,L-PLGA 50:50	D,L-PLGA 75:25	D,L-PLGA 75:25
Viscosité inhérente dans CHCl ₃ (dl/g)	0,47	0,61	0,70
Indice d'acide (meq KOH/g)	2,68	2,08	1,61

Exemple 7 :

- 5 22,560 g d'acétate de lanréotide non modifié sont dissous dans 752 ml d'eau. La solution est congelée dans un plateau baignant dans un bac d'azote liquide, puis lyophilisée. 21,75 g d'acétate de lanréotide modifié, de surface spécifique égale à 4,4 m²/g, sont obtenus avec un rendement de 96,41 %.

- L'étape d'encapsulation est ensuite réalisée selon la méthode de coacervation telle que décrite dans les brevets européen EP 52 510 et américain US 3,773,919 ; au départ de 7,5 g de cet acétate de triptoréline modifié et broyé et d'une solution à 3,7 % de D,L-PLGA (D,L-PLGA composé de 50 % de DL-lactide et 50 % de glycolide, viscosité inhérente dans HFIP = 0,55 dl/g) dans du dichlorométhane. 650 ml d'huile de silicone ont été additionnés pour former des microcapsules par le procédé de coacervation. Ces microcapsules sont récupérées après immersion dans un bain d'heptane (30 l) et filtration sur membrane 10 µm.

Exemples 8 et 9 :

- Des microcapsules d'acétate de triptoréline ont été fabriquées avec D,L-PLGA (D,L-PLGA composé de 75 % de DL-lactide et 25 % de glycolide) de différentes masses moléculaires moyennes en poids (Mw). Les fabrications ont été effectuées selon le procédé décrit dans l'exemple 1 avec un acétate de triptoréline de surface spécifique égal à 4,7 m²/g.

Les paramètres physico chimiques des exemples 8 et 9 sont réunis dans le tableau ci-après :

Exemple	Mw THF	IV CHCl ₃ (dl/g)	Indice d'acide (meq KOH/g)
8	58400	0,61	2,08
9	132650	0,93	1,31

Exemple 10 :

Des microcapsules ont été fabriquées selon le procédé décrit dans l'exemple 1 avec D,L-PLGA (D,L-PLGA composé de 75 % de DL-lactide et 25 % de glycolide ; masse moléculaire déterminée dans le THF : 80100 ; viscosité dans le chloroforme : 0,75 dl/g, indice
5 d'acide = 0,40 meq KOH / g) à tendance hydrophobe.

Exemple 11 :

Des microcapsules ont été fabriquées selon le procédé décrit dans l'exemple 1, à partir d'un L-PLGA (L-PLGA composé de 75 % de L-lactide et 25 % de glycolide ; masse moléculaire
10 dans le THF : 99260 ; viscosité dans le chloroforme : 0,78 dl/g, indice d'acide = 1,80 meq KOH / g) à tendance cristalline.

Exemple 12 :

A quatre parties, en poids, de poudre de D,L-PLGA (PLGA composé de 75 % de lactide et 25 % de glycolide ; masse moléculaire déterminée dans le THF : 103810 ; viscosité
15 inhérente dans le chloroforme : 0,82 dl/g) on ajoute une partie, en poids, d'acétate de triptoréline.

On détruit les grumeaux par un tamisage sur une maille 400 μm , on mélange 20 minutes à 42 tours par minute et on extrude le mélange à 120° C avec une extrudeuse à vis, à travers une filière de 1 mm d'ouverture. On refroidit ensuite à l'air et on calibre par étirage (étireuse)
20 à un diamètre final de 0,85 mm.

La richesse du mélange par unité de longueur (mm^{-1}) est déterminée et on dose les microimplants à 3 mg de triptoréline en coupant les tiges d'extrudat à des longueurs calculées (ici, 24 mm). Enfin, le poids de chaque microimplant est contrôlé.

Exemples 13 et 14 :

25 Le même protocole est utilisé pour ces deux exemples :

5 g d'acétate de lanréotide sont dissous dans de l'eau pour donner la concentration choisie à la solution (par exemple, pour obtenir la concentration de 30 g/l, on ajoute 167 ml d'eau stérile). Cette solution est atomisée à l'aide d'un pulvérisateur de 500 ml, dont le jet est réglé de façon à obtenir les gouttelettes les plus fines possibles. Les gouttelettes obtenues sont
30 projetées dans un plateau dont le fond trempe dans l'azote liquide. Deux sondes de température sont préalablement introduites dans le plateau afin de suivre l'évolution de la

température du produit.

Une fois le produit congelé, le plateau est introduit dans un lyophilisateur dont la plaque est à environ -54°C .

On laisse s'équilibrer la température des produits et de la plaque pendant 1 heure. Puis on passe à la phase de sublimation (la température de la plaque est fixée à 20°C et la pression dans la cuve à $100\ \mu\text{bar}$). Cette phase dure environ 30 heures. La température finale moyenne du produit est de 13°C . La dessiccation secondaire qui suit (pression dans la cuve $50\ \mu\text{bar}$) dure environ 24 heures. La température finale moyenne du produit est de 20°C .

Les caractéristiques des réactifs engagés et des produits obtenus sont résumés dans le tableau ci-après :

Caractéristiques	Exemple 13	Exemple 14
Masse d'acétate de lanréotide engagée (g)	5,00	5,00
Concentration de la solution (g/l)	30	10
Masse d'acétate de lanréotide récupérée	4,54	4,10
Surface spécifique obtenue (m^2/g)	36	43

L'acétate de lanréotide de surface spécifique $43\ \text{m}^2/\text{g}$ obtenu précédemment (exemple 14) est incorporé dans des microcapsules selon le procédé suivant :

0,782 g d'acétate de lanréotide sont pesés dans un tube en verre. 15 ml de dichlorométhane sont ajoutés au sel de peptide. Le broyage du peptide est effectué aux ultrasons à l'aide d'un générateur à ultrasons équipé d'un amplificateur et d'une sonde à extrémité plate ou plongeante (fréquence = 50 Hz, puissance 250 W ; broyage durant environ 15 min).

L'étape d'encapsulation est ensuite réalisée selon la méthode de coacervation telle que décrite dans les brevets européen EP 52 510 et américain US 3,773,919 en utilisant les 0,782 g d'acétate de lanréotide broyés et une solution de 4 g de D,L-PLGA 50:50 ($\text{IV} = 0,48\ \text{dl/g}$ dans CHCl_3) dans 35 ml de dichlorométhane. 34,2 ml d'huile de silicone ont été additionnés pour former des microcapsules par le procédé de coacervation. Ces microcapsules sont récupérées après immersion dans un bain d'heptane (2,5 l) et filtration sur membrane $10\ \mu\text{m}$.

Les microcapsules obtenues peuvent ensuite être séchées sous vide, réparties en flacons, et lyophilisées avec des excipients (par exemple du ballast ou un surfactant) afin d'être stockées dans de bonnes conditions et faciliter la mise en suspension des microcapsules.

Exemples 15 et 16 :

- 5 Un protocole analogue à celui de l'exemple 1 est utilisé pour ces deux exemples. Le peptide utilisé est le même que celui de ces exemples. Les caractéristiques en termes de PLGA utilisé, de quantité de peptide engagé (pour ces exemples, l'acétate de triptoréline modifié) et de paramètres de préparation des microcapsules sont reportées dans le tableau ci-après :

Caractéristiques	Exemple 15	Exemple 16
Masse d'acétate de triptoréline modifié engagée (g)	2,58	2,58
Quantité de polymère engagée (g)	30	30
Quantité d'huile de silicone engagée (ml)	600	650
Quantité de dichlorométhane engagée (ml)	812	812
Proportion lactide / glycolide	75 / 25	75 / 25
Viscosité du PLGA dans CHCl ₃ (dl/g)	0,96	0,96
Indice d'acide mesuré	1,22	1,12

10 **Etude des profils de libération de microcapsules selon l'invention :**

Afin d'illustrer l'intérêt de microcapsules selon l'invention, l'étude de leurs profils de libération *in vitro* a été réalisée.

- 15 Pour chacun des exemples 1 à 11 et 15 à 16, on mesure la libération de trois prises d'essai d'environ 25 mg de microcapsules (environ 20 mg pour l'exemple 7), placées dans 4 ml de solution de chlorure de sodium à 0,9 %. On extrait après 1 heure, 1 jour et 4 jours de libération dans la solution maintenue à 37° C.

On dose la triptoréline par chromatographie liquide de haute performance (HPLC) par rapport à une gamme d'étalonnage en mode gradient dans le système acide trifluoroacétique (TFA).

Pour obtenir la gamme d'étalonnage standard pour la triptoréline, on prépare une solution T₁ de la façon suivante : une prise d'essai voisine de 7,5 mg d'acétate de triptoréline de référence est placée dans une fiole de 50 ml ; on complète à 50 ml avec une solution d'acide acétique à 0,1 %. A partir de la solution T₁, on prépare les solutions T₂ et T₃ en procédant
5 comme suit : pour T₂, on prélève 10 ml de solution T₁ et on complète à 20 ml avec la solution d'acide acétique à 0,1 %. Pour la solution T₃, on prélève 1 ml de solution T₁ et on complète à 50 ml avec la solution d'acide acétique à 0,1 %.

Le lanréotide est dosé de façon analogue par HPLC. Pour obtenir la gamme d'étalonnage standard pour le lanréotide, on prépare une solution T'₁ de la façon suivante : une prise
10 d'essai voisine de 16,5 mg d'acétate de triptoréline de référence est placée dans une fiole de 50 ml ; on complète à 50 ml avec une solution d'acide acétique à 0,1 %. A partir de la solution T'₁, on prépare les solutions T'₂, T'₃, T'₄ et T'₅ en procédant comme suit : pour T'₂, on prélève 10 ml de solution T'₁ et on complète à 25 ml avec la solution d'acide acétique à 0,1 %. Pour la solution T'₃, on prélève 5 ml de solution T'₁ et on complète à
15 25 ml avec la solution d'acide acétique à 0,1 %. La solution T'₄ est obtenue par dilution de 2 ml de solution T'₁ dans une solution d'acide acétique à 0,1 % pour obtenir un volume total de 25 ml, et la solution T'₅ par dilution de 1 ml de solution T'₁ dans une solution d'acide acétique à 0,1 % pour obtenir un volume total de 25 ml.

La quantité d'acétate de triptoréline ou d'acétate de lanréotide libérée est déterminée en
20 pourcentage par rapport à la quantité d'acétate de triptoréline ou d'acétate de lanréotide initialement présente (100 %), qui sert de référence.

Les résultats des tests *in vitro* sont résumés par le tableau ci-dessous :

Exemples	Taux de libération cumulé (%)		
	1 heure	1 jour	4 jours
1	8	16	27
2	9	47	57
3	10	45	67
4	10	37	65
5	9	41	66
6	8	30	55
7	3	14,5	28,3
8	11	40	67
9	2	4	6
10	5	12	14
11	1	2	2
15	2	4	13
16	2	5	10

Les résultats des tests *in vivo* sont parfaitement bien corrélés à ceux des tests *in vitro*. A titre d'exemple, des microcapsules de l'exemple 1, à la dose de 1,2 mg/kg, ont été injectées par voie intramusculaire à des rats. Un dosage plasmatique a révélé que le taux de triptoréline restait constamment supérieur à 0,1 ng/ml sur une période de plus de 90 jours. Des mêmes études menées sur des microcapsules de l'exemple 2 ont montré que le taux de testostérone restait constamment inférieur à 1 ng/ml sur une période de plus de 90 jours. Par ailleurs, des microcapsules de l'exemple 9 ont aussi été injectées par voie intramusculaire à des rats à une dose de 1,2 mg/kg et un dosage plasmatique a montré que le taux de triptoréline restait constamment supérieur à 0,1 ng/ml sur une période de plus de 90 jours.

Les microimplants de l'exemple 12 ont été testés *in vivo* de la façon suivante : une dose totale de 3 mg de triptoréline a été injectée en intramusculaire sur 6 chiens Beagles (poids d'environ 12 kg) dans un muscle de la patte arrière de chacun des animaux. Un dosage plasmatique a révélé que le taux de triptoréline restait constamment supérieur à 0,1 ng/ml sur une période de plus de 90 jours.

REVENDICATIONS

1. Composition sous forme de microcapsules ou d'implants comprenant un excipient ou un mélange d'excipients polymères ou copolymères biodégradables et une substance active ou un mélange de substances actives, lesdites microcapsules ou lesdits implants pouvant libérer la substance active ou le mélange de substances actives sur une période prolongée pouvant aller jusqu'à trois mois ou plus selon un profil essentiellement monophasique, ladite composition étant caractérisée en ce que :
5
- ou bien, lorsque la composition est sous forme de microcapsules :
 - soit la viscosité desdits polymères ou copolymères est comprise entre 0,7 dl/g et 1,6 dl/g dans CHCl_3 et le procédé de préparation desdites microcapsules ne comporte pas d'étape de fusion desdites microcapsules,
 - soit la viscosité desdits polymères ou copolymères est comprise entre 0,5 dl/g et 1,6 dl/g dans CHCl_3 et lesdits polymères ou copolymères ont un caractère hydrophile,
10
- ou bien, lorsque la composition est sous forme d'implants, la viscosité desdits polymères ou copolymères est comprise entre 0,5 dl/g et 1,6 dl/g dans CHCl_3 .
15
2. Composition sous forme de microcapsules ou d'implants selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'excipient polymère ou copolymère biodégradable possède une viscosité inhérente au moins égale à 0,9 dl/g dans CHCl_3 .
- 20 3. Composition sous forme de microcapsules ou d'implants selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisée en ce que le polymère biodégradable est un copolymère de lactide et de glycolide (PLGA).
4. Composition selon la revendication 3, caractérisée en ce que l'indice d'acide du polymère ou copolymère est supérieur à 1 meq de KOH par gramme de polymère ou copolymère, et de préférence supérieur à 1,2 ou 1,5 meq de KOH par gramme de polymère ou copolymère.
25
5. Composition sous forme de microcapsules ou d'implants selon la revendication 3 ou 4, caractérisée en ce que le PLGA est préparé à partir de 70 à 80 % de lactide et de 20 à 30 % de glycolide.

6. Composition sous forme de microcapsules ou d'implants selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisée en ce que le polymère biodégradable est un copolymère de L-lactide et de glycolide.
7. Composition sous forme de microcapsules ou d'implants comprenant au moins un excipient ou un mélange d'excipients polymères ou copolymères biodégradables et au moins une substance active hydrosoluble présentant une surface spécifique élevée.
8. Composition sous forme de microcapsules ou d'implants selon la revendication 7, caractérisée en ce que la surface spécifique de la substance active est supérieure à $2 \text{ m}^2/\text{g}$, et de préférence supérieure à $3 \text{ m}^2/\text{g}$.
9. Composition sous forme de microcapsules ou d'implants selon la revendication 8, caractérisée en ce que la surface spécifique de la substance active est supérieure à $5 \text{ m}^2/\text{g}$, et de préférence supérieure à $10 \text{ m}^2/\text{g}$.
10. Composition sous forme de microcapsules ou d'implants selon la revendication 9, caractérisée en ce que la surface spécifique de la substance active est supérieure à $20 \text{ m}^2/\text{g}$, et de préférence supérieure à $30 \text{ m}^2/\text{g}$.
11. Composition sous forme de microcapsules ou d'implants selon l'une quelconque des revendications 7 à 10, caractérisée en ce que la viscosité du polymère ou du copolymère est comprise entre 0,5 et 1,6 dl/g dans CHCl_3 , et de préférence comprise entre 0,9 et 1,6 dl/g dans CHCl_3 .
12. Composition sous forme de microcapsules ou d'implants selon l'une quelconque des revendications 7 à 11, caractérisée en ce que le polymère ou le copolymère présente un caractère hydrophile, l'indice d'acide de ce dernier étant supérieur à 1 meq de KOH par gramme de polymère ou copolymère, et de préférence supérieur à 1,2 ou 1,5 meq de KOH par gramme de polymère ou copolymère.
13. Composition sous forme de microcapsules ou d'implants selon l'une quelconque des revendications 7 à 12, caractérisée en ce que le polymère ou copolymère est un PLGA, de préférence un PLGA préparé à partir de 70 à 80 % de lactide et de 20 à 30 % de glycolide.
14. Composition sous forme de microcapsules ou d'implants selon l'une quelconque des revendications 1 à 13, caractérisée en ce que la substance active est une protéine ou un peptide.

15. Composition sous forme de microcapsules ou d'implants selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que la substance active est choisie dans le groupe constitué des substances suivantes : la triptoréline ou un de ses sels, en particulier l'acétate de triptoréline, le lanréotide ou un de ses sels, en particulier l'acétate de lanréotide, l'octréotide ou un de ses sels, en particulier l'acétate ou le pamoate d'octréotide, un composé ayant une activité LH-RH tel que la triptoréline, la goséréline, la leuproréline, la buséréline ou leurs sels, un antagoniste de LH-RH, un antagoniste de GPIIb/IIIa, un composé ayant une activité similaire à un antagoniste de GPIIb/IIIa, l'érythropoïétine (EPO) ou un de ses analogues, les différents interférons α , l'interféron β ou γ , la somatostatine, un dérivé de la somatostatine, un analogue de la somatostatine, l'insuline, une hormone de croissance, un facteur libérateur d'hormone de croissance (GRF), un peptide libérateur d'hormone de croissance (GHRP), un facteur de croissance épidermique (EGF), une hormone mélanocyte-stimulante (MSH), une hormone libératrice de thyrotropine (TRH) ou un de ses sels ou dérivés, une hormone stimulant la thyroïde (TSH), une hormone lutéinisante (LH), une hormone stimulant les follicules (FSH), une hormone parathyroïdienne (PTH) ou un de ses dérivés, un hydrochlorure de lysozyme, un peptide relié à l'hormone parathyroïdienne (PTHrp), un fragment de peptide à N terminal (position 1—>34) de l'hormone PTH humaine, la vasopressine ou un de ses dérivés, l'oxytocine, la calcitonine, un dérivé de la calcitonine ayant une activité similaire à celle de la calcitonine, un peptide relié au gène de la calcitonine (CGRP), le glucagon, un peptide similaire au glucagon (GLP), la gastrine, un peptide libérateur de gastrine (GRP), la sécrétine, la pancréozymine, la cholécystokinine, l'angiotensine, le lactogène du placenta humain, la gonadotropine chorionique humaine (HCG), l'enképhaline, un dérivé de l'enképhaline, le facteur stimulateur de colonies (CSF), l'endorphine, la kyotorphine, les interleukines, par exemple l'Interleukine 2, la tuftsine, la thymopoiétine, la thymosthymline, le facteur thymique humoral (THF), le facteur thymique sérique (FTS), un dérivé du facteur thymique sérique (FTS), la thymosine, le facteur thymique X, le facteur de nécrose tumorale (TNF), la motiline, la bombésine ou un de ses dérivés, la prolactine, la neurotensine, la dynorphine, la caeruléine, la substance P, l'urokinase, l'asparaginase, la bradykinine, la kallikréine, le facteur de croissance nerveuse, un facteur de coagulation sanguine, la polymixine B, la colistine, la gramicidine, la bacitracine, un peptide stimulant la synthèse protéique, un antagoniste de l'endothéline ou un de ses sels ou dérivés, un polypeptide intestinal vasoactif (VIP), l'hormone adrénocorticotropique (ACTH) ou un de ses fragments, un facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF), une protéine morphogénétique osseuse (BMP), un polypeptide activant l'adénylatecyclase pituitaire (PACAP), le neuropeptide Y (NPY), le peptide YY (PYY), un polypeptide inhibiteur

gastrique (GIP), et des polynucléotides, notamment des ARN double brin.

16. Composition sous forme de microcapsules ou d'implants selon l'une des revendications 1 à 15, caractérisée en ce que la substance active est choisie parmi un groupe composé de l'acétate de triptoréline, l'acétate de lanréotide ou l'acétate d'octréotide.
17. Procédé de préparation d'une substance hydrosoluble présentant une surface spécifique élevée, comprenant les étapes suivantes :
- une étape de lyophilisation comprenant une trempe rapide d'une solution diluée de ladite substance hydrosoluble dans un milieu de température inférieure à -50°C , et de préférence inférieure à -70°C ;
 - éventuellement une étape de broyage, laquelle comprend de préférence un broyage ultrasonique.
18. Procédé selon la revendication 17, caractérisé en ce que la solution diluée est une solution à une concentration inférieure à la moitié de la concentration de saturation.
19. Procédé selon la revendication 17 ou 18, caractérisé en ce que la substance hydrosoluble présente une concentration de saturation d'au moins 200 g/l et que la solution diluée est une solution à une concentration inférieure à un quart de la concentration de saturation.
20. Procédé selon l'une des revendications 17 à 19, caractérisé en ce que la trempe rapide est réalisée après une étape de micronisation de la solution de substance active, ladite étape de micronisation consistant de préférence en le passage de la solution de substance active dans un atomiseur.
21. Substance active, de préférence une protéine ou un peptide, telle qu'obtenue par un procédé selon l'une des revendications 17 à 20.
22. Substance active selon la revendication 21, caractérisée en ce qu'elle est choisie dans le groupe constitué des substances suivantes : la triptoréline ou un de ses sels, en particulier l'acétate de triptoréline, le lanréotide ou un de ses sels, en particulier l'acétate de lanréotide, l'octréotide ou un de ses sels, en particulier l'acétate d'octréotide, un composé ayant une activité LH-RH tel que la triptoréline, la goséréline, la leuproréline, la buséréline ou leurs sels, un antagoniste de LH-RH, un antagoniste de GPIIb/IIIa, un composé ayant une activité similaire à un antagoniste de GPIIb/IIIa, l'érythropoïétine (EPO) ou un de ses analogues, les différents interférons α , l'interféron β ou γ , la somatostatine, un dérivé de la somatostatine, un analogue de la

5 somatostatine, l'insuline, une hormone de croissance, un facteur libérateur d'hormone de croissance (GRF), un peptide libérateur d'hormone de croissance (GHRP), un facteur de croissance épidermique (EGF), une hormone mélanocyte-stimulante (MSH), une hormone libératrice de thyrotropine (TRH) ou un de ses sels ou dérivés, une hormone stimulant la thyroïde (TSH), une hormone lutéinisante (LH), une hormone stimulant les follicules (FSH), une hormone parathyroïdienne (PTH) ou un de ses dérivés, un peptide relié à l'hormone parathyroïdienne (PTHrp), un fragment de peptide à N terminal (position 1—>34) de l'hormone PTH humaine, la vasopressine ou un de ses dérivés, l'oxytocine, la calcitonine, un dérivé de la calcitonine ayant une activité similaire à celle de la calcitonine, un peptide relié au gène de la calcitonine (CGRP), le glucagon, un peptide similaire au glucagon (GLP), la gastrine, un peptide libérateur de gastrine (GRP), la sécrétine, la pancréozymine, la cholécystokinine, l'angiotensine, le lactogène du placenta humain, la gonadotropine chorionique humaine (HCG), l'enképhaline, un dérivé de l'enképhaline, le facteur stimulateur de colonies (CSF), l'endorphine, la kytorphine, les interleukines, par exemple l'Interleukine 2, la tuftsine, la thymopoiétine, la thymosthymline, le facteur thymique humoral (THF), le facteur thymique sérique (FTS), un dérivé du facteur thymique sérique (FTS), la thymosine, le facteur thymique X, le facteur de nécrose tumorale (TNF), la motiline, la bombésine ou un de ses dérivés, la prolactine, la neurotensine, la dynorphine, la caeruleine, la substance P, l'urokinase, l'asparaginase, la bradykinine, la kallikréine, le facteur de croissance nerveuse, un facteur de coagulation sanguine, la polymixine B, la colistine, la gramicidine, la bacitracine, un peptide stimulant la synthèse protéique, un antagoniste de l'endothéline ou un de ses sels ou dérivés, un polypeptide intestinal vasoactif (VIP), l'hormone adrénocorticotropique (ACTH) ou un de ses fragments, un facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF), une protéine morphogénétique osseuse (BMP), un polypeptide activant l'adénylatecyclase pituitaire (PACAP), le neuropeptide Y (NPY), le peptide YY (PYY), un polypeptide inhibiteur gastrique (GIP), et des polynucléotides, notamment des ARN double brin.

23. Acétate de triptoréline, acétate de lanréotide ou acétate d'octréotide tel qu'obtenu par un procédé selon l'une des revendications 17 à 20.

24. ARN double brin, de préférence un complexe d'acide polyadénylique avec de l'acide polyuridylique, tel qu'obtenu par un procédé selon l'une des revendications 17 à 20.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 98/00773

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 6 A61K9/16 A61K38/09

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 40 41 563 A (SCHWARZ PHARMA AG) 25 June 1992 see page 2, line 1 - line 9	1,3,5,6, 14,15
Y	see page 2, line 66 - page 3, line 4 see page 3 - page 4; example 2	16
Y	EP 0 579 347 A (FERRING ARZNEIMITTEL GMBH) 19 January 1994 see column 6; example 1	16
A	EP 0 709 085 A (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD) 1 May 1996 cited in the application see the whole document see page 9, line 1 - line 9	7-13, 17-24
	-/-	

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

31 August 1998

Date of mailing of the international search report

04/09/1998

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Benz, K

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 Int'l Application No
 PCT/FR 98/00773

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 384 752 A (ELI LILLY AND COMPANY) 29 August 1990 see page 1, line 3 - line 6 see page 3; table 1	17-24
X	CH 661 206 A (DEBIOPHARM S.A.) 15 July 1987 see claims 1-8	1,3
X	FR 2 693 905 A (RHÔNE MERIEUX) 28 January 1994 see page 20; example 3	1,3
X	GB 2 246 514 A (SOCIÉTÉ DE CONSEILS DE RECHERCHES ET D'APPLICATIONS SCIENTIFIQUES) 5 February 1992 see page 8, paragraph 4 see page 9 - page 12; examples 1,2,4-12	1-4
T	WO 97 26869 A (UNITED STATES GOVERNMENT) 31 July 1997 see page 2, line 1 - page 3, line 11	1,4,12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 98/00773

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 4041563 A	25-06-1992	AT 116542 T	15-01-1995
		CA 2098814 A	23-06-1992
		WO 9211000 A	09-07-1992
		DE 59104172 D	16-02-1995
		DK 563176 T	06-03-1995
		EP 0563176 A	06-10-1993
		ES 2067324 T	16-03-1995
		FI 932761 A	16-06-1993
		GR 3015623 T	30-06-1995
		IE 65915 B	29-11-1995
		JP 6504531 T	26-05-1994
		PT 99892 A	31-12-1992
US 5424076 A	13-06-1995		
EP 579347 A	19-01-1994	DE 4223169 C	25-11-1993
		AT 137114 T	15-05-1996
		DE 59302329 D	30-05-1996
		DK 579347 T	12-08-1996
		ES 2085716 T	01-06-1996
		US 5503851 A	02-04-1996
EP 709085 A	01-05-1996	CA 2159552 A	31-03-1996
		JP 8151321 A	11-06-1996
EP 384752 A	29-08-1990	US 5021554 A	04-06-1991
		AU 625298 B	09-07-1992
		AU 5006990 A	30-08-1990
		CA 2010328 A	24-08-1990
		HU 66548 A, B	28-12-1994
		JP 2264793 A	29-10-1990
CH 661206 A	15-07-1987	US 4835139 A	30-05-1989
FR 2693905 A	28-01-1994	AU 675788 B	20-02-1997
		AU 4202293 A	10-02-1994
		CA 2100925 A	28-01-1994
		EP 0585151 A	02-03-1994
		JP 6087758 A	29-03-1994
		NZ 248207 A	27-02-1996
		US 5540937 A	30-07-1996

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 98/00773

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
GB 2246514 A	05-02-1992	AT 396425 B	27-09-1993
		AT 152591 A	15-01-1993
		AU 666808 B	22-02-1996
		AU 5939394 A	02-06-1994
		AU 649696 B	02-06-1994
		AU 8146691 A	06-02-1992
		BE 1004772 A	26-01-1993
		CA 2048270 A,C	02-02-1992
		CH 682715 A	15-11-1993
		DE 4125542 A	06-02-1992
		DK 141891 A	02-02-1992
		ES 2046083 A	16-01-1994
		FI 913646 A	02-02-1992
		FR 2665360 A	07-02-1992
		GR 91100330 A,B	31-08-1992
		HK 33294 A	22-04-1994
		IE 65124 B	04-10-1995
		IT 1251788 B	26-05-1995
		JP 5178740 A	20-07-1993
		LU 87982 A	15-04-1992
NL 9101306 A	02-03-1992		
NO 300158 B	21-04-1997		
OA 9387 A	15-09-1992		
PT 98497 A,B	30-06-1992		
SE 505734 C	06-10-1997		
SE 9102249 A	02-02-1992		
SG 25394 G	10-06-1994		
US 5213812 A	25-05-1993		
WO 9726869 A	31-07-1997	AU 1410497 A	20-08-1997
		CA 2216371 A	31-07-1997
		EP 0817619 A	14-01-1998

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De ... de internationale No

PCT/FR 98/00773

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE CIB 6 A61K9/16 A61K38/09		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE		
Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) CIB 6 A61K		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	DE 40 41 563 A (SCHWARZ PHARMA AG) 25 juin 1992 voir page 2, ligne 1 - ligne 9 voir page 2, ligne 66 - page 3, ligne 4	1,3,5,6, 14,15
Y	voir page 3 - page 4; exemple 2	16
Y	EP 0 579 347 A (FERRING ARZNEIMITTEL GMBH) 19 janvier 1994 voir colonne 6; exemple 1	16
A	EP 0 709 085 A (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD) 1 mai 1996 cité dans la demande voir le document en entier voir page 9, ligne 1 - ligne 9	7-13, 17-24
	-/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités:		
"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "Z" document qui fait partie de la même famille de brevets		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée 31 août 1998		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 04/09/1998
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé Benz, K

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

D. .nde Internationale No
PCT/FR 98/00773

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	EP 0 384 752 A (ELI LILLY AND COMPANY) 29 août 1990 voir page 1, ligne 3 - ligne 6 voir page 3; tableau 1	17-24
X	CH 661 206 A (DEBIOPHARM S.A.) 15 juillet 1987 voir revendications 1-8	1,3
X	FR 2 693 905 A (RHÔNE MERIEUX) 28 janvier 1994 voir page 20; exemple 3	1,3
X	GB 2 246 514 A (SOCIÉTÉ DE CONSEILS DE RECHERCHES ET D'APPLICATIONS SCIENTIFIQUES) 5 février 1992 voir page 8, alinéa 4 voir page 9 - page 12; exemples 1,2,4-12	1-4
T	WO 97 26869 A (UNITED STATES GOVERNMENT) 31 juillet 1997 voir page 2, ligne 1 - page 3, ligne 11	1,4,12

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Date de l'acte internationale No

PCT/FR 98/00773

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevets)	Date de publication
DE 4041563	A	25-06-1992	AT 116542 T	15-01-1995
			CA 2098814 A	23-06-1992
			WO 9211000 A	09-07-1992
			DE 59104172 D	16-02-1995
			DK 563176 T	06-03-1995
			EP 0563176 A	06-10-1993
			ES 2067324 T	16-03-1995
			FI 932761 A	16-06-1993
			GR 3015623 T	30-06-1995
			IE 65915 B	29-11-1995
			JP 6504531 T	26-05-1994
			PT 99892 A	31-12-1992
			US 5424076 A	13-06-1995
EP 579347	A	19-01-1994	DE 4223169 C	25-11-1993
			AT 137114 T	15-05-1996
			DE 59302329 D	30-05-1996
			DK 579347 T	12-08-1996
			ES 2085716 T	01-06-1996
			US 5503851 A	02-04-1996
EP 709085	A	01-05-1996	CA 2159552 A	31-03-1996
			JP 8151321 A	11-06-1996
EP 384752	A	29-08-1990	US 5021554 A	04-06-1991
			AU 625298 B	09-07-1992
			AU 5006990 A	30-08-1990
			CA 2010328 A	24-08-1990
			HU 66548 A, B	28-12-1994
			JP 2264793 A	29-10-1990
CH 661206	A	15-07-1987	US 4835139 A	30-05-1989
FR 2693905	A	28-01-1994	AU 675788 B	20-02-1997
			AU 4202293 A	10-02-1994
			CA 2100925 A	28-01-1994
			EP 0585151 A	02-03-1994
			JP 6087758 A	29-03-1994
			NZ 248207 A	27-02-1996
			US 5540937 A	30-07-1996

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

De de Internationale No
PCT/FR 98/00773

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication		
GB 2246514 A	05-02-1992	AT 396425 B	27-09-1993		
		AT 152591 A	15-01-1993		
		AU 666808 B	22-02-1996		
		AU 5939394 A	02-06-1994		
		AU 649696 B	02-06-1994		
		AU 8146691 A	06-02-1992		
		BE 1004772 A	26-01-1993		
		CA 2048270 A, C	02-02-1992		
		CH 682715 A	15-11-1993		
		DE 4125542 A	06-02-1992		
		DK 141891 A	02-02-1992		
		ES 2046083 A	16-01-1994		
		FI 913646 A	02-02-1992		
		FR 2665360 A	07-02-1992		
		GR 91100330 A, B	31-08-1992		
		HK 33294 A	22-04-1994		
		IE 65124 B	04-10-1995		
		IT 1251788 B	26-05-1995		
		JP 5178740 A	20-07-1993		
		LU 87982 A	15-04-1992		
		NL 9101306 A	02-03-1992		
		NO 300158 B	21-04-1997		
		OA 9387 A	15-09-1992		
		PT 98497 A, B	30-06-1992		
		SE 505734 C	06-10-1997		
		SE 9102249 A	02-02-1992		
		SG 25394 G	10-06-1994		
		US 5213812 A	25-05-1993		
		WO 9726869 A	31-07-1997	AU 1410497 A	20-08-1997
				CA 2216371 A	31-07-1997
EP 0817619 A	14-01-1998				